



a cura di
Dr. Giovanni Bisignani
Direttore UOC Cardiologia
ed UTIC Ospedale Castrovillari

l'Ora della Salute

Chiedete allo specialista

Inviare le vostre domande a proposito dei temi trattati in questa pagina a giovanni.bisignani@calabriaora.it. Riceverete risposta per mail o, in forma anonima, nel prossimo numero del giornale.

Cellule staminali pluripotenti: nuovo traguardo nella cura

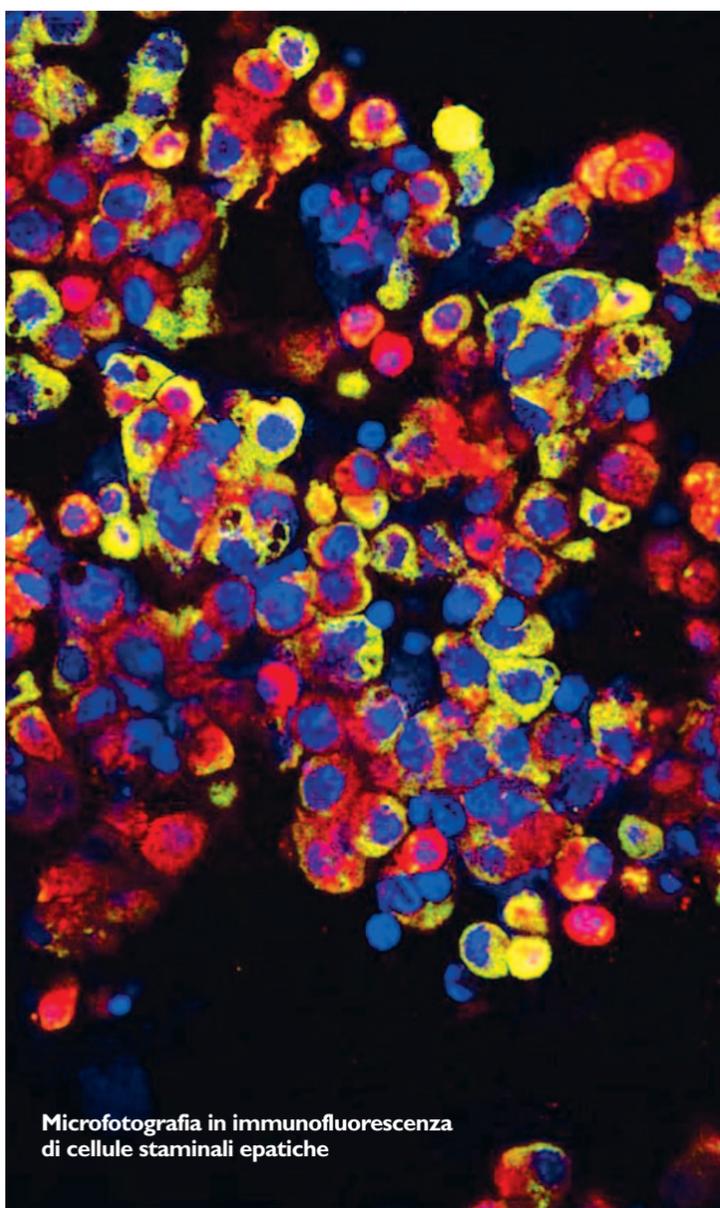
Riparare il fegato malato con le sue stesse cellule allo stato embrionale.

Al Policlinico Umberto I di Roma primo trattamento al mondo di un paziente affetto da cirrosi epatica con le cellule staminali da cui origina il fegato

Le vie biliari umane vengono distinte anatomicamente in due porzioni: le vie biliari intra-epatiche e le vie biliari extra-epatiche. In entrambe le porzioni delle vie biliari è recentemente stata identificata una nicchia di cellule staminali/progenitrici. Lo studio di tale nicchia e l'isolamento di tali cellule rappresentano un obiettivo della ricerca scientifica in ambito epatologico poiché tali cellule potrebbero rappresentare un target per lo sviluppo di terapie farmacologiche e cellulari.

Le cellule progenitrici epatiche sono cellule bipotenti in grado di differenziarsi verso i due lineage epiteliali del fegato, gli epatociti (o cellule del fegato) ed i colangiociti (o cellule delle vie biliari). Il compartimento delle cellule progenitrici epatiche, nel fegato adulto normale, è un compartimento quiescente. Infatti, il rimpiazzamento delle cellule parenchimali morte nel corso del normale turn-over cellulare viene garantito dalla proliferazione degli stessi epatociti e colangiociti adulti. Tali cellule hanno infatti enormi potenzialità proliferative, come noto sin dall'antichità con il mito di Prometeo; anche nel corso di numerose patologie epatiche, la capacità proliferativa delle cellule epatiche mature è in grado di garantire la *restituito ad integrum* dell'organo.

Tuttavia, in numerose patologie umane il compartimento staminale residente viene attivato; è il caso,



Microfotografia in immunofluorescenza di cellule staminali epatiche

ad esempio, dell'epatite fulminante acuta massiva (o sub massiva); in tale situazione, l'entità e la rapidità con cui si instaura il danno è tale che le cellule del fegato adulte non sono sufficienti a far fronte alla perdita. Inoltre, anche in patologie croniche di lunga data, la capacità proliferativa delle cellule parenchimali viene meno ed il compartimento staminale viene attivato. Le informazioni sulla nicchia delle cellule progenitrici dei dotti biliari intraepatici pone le basi per lo sviluppo di strategie di isolamento e di coltura di tali cellule. Un efficace isolamento di cellule progenitrici epatiche da fegato adulto umano rappresenta una prima strategia per ottenere cellule da utilizzare in medicina rigenerativa.

In tale contesto, **abbiamo messo a punto un protocollo di isolamento** che prevedeva l'utilizzo di fegati marginali di donatori che risultassero, dopo valutazione istopatologica, non idonei per il trapianto. In media, è stato possibile isolare circa 230.000 cellule con una vitalità > del 70%. Pertanto, attraverso tale procedimento, siamo riusciti ad ottenere cellule staminali epatiche da fegato umano normale con fenotipo indifferenziato e con una metodologia applicabile in modalità GMP, modalità necessaria per ottenere l'autorizzazione all'utilizzo di terapie cellulari come da indicazione della legislazione europea in materia. Tuttavia, tale procedura presenta importanti limitazioni legate al ridotto numero di cellule otteni-

bili dal fegato marginale ed al ridotto numero di fegati marginali non utilizzabili per il trapianto che pervengono.

Queste sono state le motivazioni che ci hanno condotto a ricercare ulteriori strategie per isolare cellule staminali epatiche. In particolare, il nostro interesse si è rivolto al fegato fetale. In primo luogo, numerosi sono gli aborti terapeutici effettuati tra la 18 e la 22 settimana di gestazione a causa di malformazioni varie o alterazioni cromosomiche (trisomia 21); inoltre, a tale età, il fegato è una fonte ottimale di cellule staminali.

Un ulteriore *reservoir* di cellule staminali potenzialmente utile per lo sviluppo di procedure di isolamento è rappresentato dall'albero biliare extraepatico, sul quale abbiamo recentemente focalizzato le nostre ricerche. L'ipotesi di partenza è stata che l'albero biliare extraepatico potesse contenere cellule staminali multipotenti. Tale ipotesi nasce dalla conoscenza e dallo studio della sviluppo embrionario dell'albero biliare. Infatti, nel corso dello sviluppo fetale, da un gruppo comune di cellule endodermiche nel contesto del duodeno hanno origine gli abbozzi del fegato, delle vie biliari extraepatiche e del pancreas ventrale. Pertanto, nelle vie biliari extraepatiche, cellule multi potenti endodermiche potrebbero essere residue nella vita post-natale.

In tal senso, il primo passo è stata la ricerca della nicchia di tali cellule staminali: la nicchia è stata individuata nel contesto delle ghiandole peribiliari, disposte nel contesto della parete delle vie biliari. In particolare, tali ghiandole sono principalmente localizzate nel dotto epatico comune a livello dell'ilo epatico, nel dotto cistico e, in maggior numero, nella papilla duodenale. La caratterizzazione di tali ghiandole ha permesso di identificare nel loro contesto cellule positive a numerosi markers altamente suggestivi di cellule staminali multipotenti.

In conclusione, un compartimento di cellule staminali bipotenti epatiche è presente nell'albero biliare intraepatico del fegato adulto e fetale. L'isolamento di tali cellule dal fegato adulto è possibile, ma ha ridotte prospettive in ambito di medicina rigenerativa per la scarsa "resa" e la ridotta disponibilità di materiali. Tali cellule rappresentano

però un bersaglio ideale per lo sviluppo di terapie farmacologiche tese a modulare i processi proliferativi/differenziativi di tali cellule. L'isolamento di cellule bipotenti da fegato fetale sembra possedere ottime prospettive per l'utilizzo in medicina rigenerativa epatica grazie alla numerosità delle cellule staminali che popolano il fegato fetale ed alla ridotta manipolazione a cui tali cellule vengono sottoposte.

Infine, l'albero biliare extra-epatico contiene, nel contesto delle ghiandole peribiliari, una nicchia di cellule staminali multi potenti di origine endodermica. Tali cellule possono essere isolate ed hanno la capacità di differenziarsi in epatociti, cellule biliari e cellule pancreatiche mature. Per la relativa facilità di reperire il materiale da cui isolare tali cellule e la scarsa manipolazione, tali cellule rappresentano un candidato ideale per la medicina rigenerativa di fegato, vie biliari e pancreas.

Prof. Eugenio Gaudi



Prof. Eugenio Gaudio, M.D.
Dean of the Faculty of Medicine and Pharmacy
Full Professor of Human and Clinical Anatomy
Department of Anatomy, Histology, Forensic Medicine and Orthopaedics
Coordinator of the Ph.D. Course on Experimental and Clinical Hepatology
University of Rome "La Sapienza"